EXD.

STATENS VÄXTSKYDDSANSTALT
MEDDELANDE N:r 27

IMP. INST. ENT.
— LIBRARY —
15 JUN 1939
SERIAL
SEPARATE

UNDERSÖKNINGAR RÖRANDE KLÖVERRÖTAN

I. Infektionsförsök med Sclerotinia trifoliorum Eriksson.

Förelöpande meddelande.

AV

K. BJÖRLING

MED 8 TABELLER OCH 3 FIGURER I TEXTEN

ZUSAMMENFASSUNG IN DEUTSCHER SPRACHE

STOCKHOLM 1939

UNDERSÖKNINGAR RÖRANDE KLÖVERRÖTAN.

I. Infektionsförsök med Sclerotinia trifoliorum Eriksson.

Förelöpande meddelande

Av K. BJÖRLING.

Med 8 tabeller och 3 figurer i texten.

Zusammenfassung in deutscher Sprache.

Inledning.

Bland de svampsjukdomar, som i vårt land angripa klöver, är utan tvivel klöverrötan den, som är mest iögonfallande, och som åstadkommer de största ekonomiska förlusterna. Denna sjukdom orsakas enligt vad som hittills genom försök påvisats av en svamp, *Sclerotinia trifoliorum* Eriksson.

I litteraturen förekomma visserligen en del uppgifter, som tyda på att även andra svampar, bl. a. *Mitrula sclerotiorum* Rostrup och *Typhula trifolii* Rostrup, skulle vara bidragande orsaker till sjukdomen. (Beretning fra Statsanstalten Dansk Frøkontrol, Tidsskrift for Planteavl, 1893/94—1902/03, Troussowa, 1927, Ekstrand, 1938). Dessa uppgifter kunna emellertid ännu icke tillmätas någon avgörande betydelse, eftersom det hittills icke har utförts några infektionsförsök, som visa, att ifrågavarande svampar överhuvudtaget kunna angripa klöver primärt i nämnvärd utsträckning, vilket däremot i flera fall har visats beträffande *Sclerotinia trifoliorum*.

Beträffande *Mitrula sclerotiorum* som sannolik parasit icke på klövern utan på *Sclerotinia trifoliorum* hänvisas till Ekstrand (1938, noten sid. 14). I fråga om *Typhula trifolii* och ett par andra ej artbestämda, sklerotiebildande svampar framgår det otvivelaktigt av Ekstrands meddelande (1938), att det är mycket sannolikt, att dessa svampar kunna vara bidragande orsaker till klöverrötan. Några på infektionsförsök grundade och alltså avgörande bevis för *Typhula trifoliis* och dessa andra svampars förmåga att primärt angripa klöver, ha emellertid ännu icke framlagts. I föreliggande meddelande behandlas endast infektionsförsök på rödklöver med *Sclerotinia trifoliorum*, vilken svamp i varje fall ännu så länge måste anses spela den avgörande rollen som primär orsak till klöverrötan.

Bland de många olösta problem, som äro förknippade med klöverrötan, är det framförallt en fråga, som i samband med på senare tid påbörjad resistensförädling av rödklöver mot denna sjukdom, blivit alltmera aktuell. Det är frågan

om en eventuell förekomst av olika fysiologiska raser hos *Sclerotinia trifoliorum.*

Föregående undersökningar. Hittills föreligga trots flera undersökningar på området (Nilsson-Leissner och Sylvén, 1929, Pape, 1937, Rudorf, 1937), ej ens fullt säkra uppgifter om en uppdelning av *Sclerotinia trifoliorum* i formæ speciales enligt Jakob Erikssons terminologi, och ej heller några slutgiltiga bevis för en fysiologisk rasspecialisering inom formerna. Nilsson-Leissner och Sylvén (1929) ha emellertid visat, att svampen i fråga med stor sannolikhet består av ett antal formæ speciales, däribland en på rödklöver, en på vitklöver och en på alsikeklöver. Även Pape (1937) har utfört infektionsförsök med *Sclerotinia trifoliorum* på olika *Trifolium-, Melilotus-* och *Vicia*-arter, av vilka det med stor sannolikhet framgår, att olika formæ speciales finnas av denna svamp, men han betonar, att infektionsförsök i större skala äro nödvändiga för en utredning av frågan om fysiologisk rasspecialisering.

Egna undersökningar. I föreliggande meddelande behandlas endast av mig utförda försök med den på rödklöver levande formen av svampen. Avsikten med dessa försök var, dels att experimentellt fastställa redan i praktiken iakttagna resistensskillnader beträffande klöverröta hos olika rödklöverstammar, dels att söka påvisa fysiologiska raser hos *Sclerotinia trifoliorum.* Undersökningarna ha varit förlagda till Sveriges Utsädesförening i Svalöv sommaren 1938, varvid rödklövermaterial och arbetskraft välvilligt ställts till mitt förfogande av Fil. Dr. G. Nilsson-Leissner, (som i förädlingssyfte övertagit de vid försökens avslutande kvarlevande plantorna). För allt det intresse och de goda råd, varmed Dr. Nilsson-Leissner bidragit vid planläggningen och utförandet av undersökningarna, får jag härmed framföra mitt varma tack.

Principiella svårigheter vid genomförandet av infektionsförsök med parasiter på korsbefruktande växter.

Att de infektionsförsök, som hittills ha utförts med *Sclerotinia trifoliorum,* givit så ringa resultat, torde framförallt förklaras därav, att det är betydligt mera komplicerat att påvisa fysiologiska raser hos en parasit på en korsbefruktande växt (såsom klöver) än hos parasiter på självbefruktare eller växter med vegetativ fortplantning (klonväxter). Hos rödklöver innehåller som bekant varje stam ett flertal olika biotyper enl. Johannsen och på grund av denna heterogenitet inom stammen, som dessutom genom naturlig selektion år från år ej är fullständigt konstant, är det givetvis förenat med stor osäkerhet att använda stammen som enhet vid utförandet av sådana infektionsförsök, som avse ett utforskande av olika svampraser. Även om man begränsar försöken till ett och samma år, eller använder samma fröparti i en följd av år, kan man inte på förhand vara säker på att få olika resultat av infektioner på samma rödklöverstam med två med visshet olika raser av *Sclerotinia trifoliorum.* Tvärtom kan det inträffa, att fastän man infekterar med två olika svampraser, de synliga slutresultaten te sig på samma sätt. För att belysa detta, kan man för enkelhetens

skull antaga, att den ena *Sclerotinia*rasen angriper och dödar ett antal biotyper a-g, tillsammans utgörande 10 % av en viss rödklöverstam, under det att den andra *Sclerotinia*rasen dödar ett antal andra biotyper h-m, som också tillsammans utgöra 10 % av samma rödklöverstam. På så sätt får man vid ett infektionsförsök med dessa två olika raser ett procentuellt lika starkt angrepp på rödklöverstammen, och om denna, som ofta är fallet, morfologiskt sett är så gott som enhetlig, kan man vid bedömandet av resultaten icke konstatera, att angreppet i de båda fallen verkligen är kvalitativt olikartat och att man har att göra med två olika svampraser.

Det har emellertid, att döma efter de försök, som här nedan skall beskrivas, visat sig vara möjligt att uppnå vissa resultat även med klöverstaminfektionsförsök, om försöken utföras med ett större antal klöverstammar jämsides och plantantalet inom varje stam är stort.

Även ur en annan synpunkt, nämligen resistensförädlingens, äro dylika staminfektionsförsök i större skala värda att utföras. De vid försökens avslutande överlevande plantorna måste givetvis äga en genomsnittligt taget större resistens mot *Sclerotinia trifoliorum* än den ursprungliga stammens, och således böra dessa plantor utgöra ett värdefullt utgångsmaterial antingen för direkt förökning eller för fortsatt eliminering av mottagliga plantor t. ex. genom förnyade infektioner med andra *Sclerotinia*raser. En på detta sätt bedriven resistensförädling av rödklöver innebär i själva verket endast en skärpning av den för samma ändamål av Sylvén (1936) utarbetade metoden, som grundar sig på det naturliga urvalets resistensförädlande verkan. Under förutsättning att den med konst utförda infektionen utföres på stora sortiment, erbjuder den emellertid vissa fördelar framför den naturliga urvalsmetoden, framförallt därigenom, att nedsmittningen kan göras mera fullständig. Vidare är infektionsmetoden överlägsen, om man har att göra med flera fysiologiska raser hos klöverrötesvampen, vilket är ytterst sannolikt (se nedan).

För att få slutgiltiga bevis på en fysiologisk rassperialisering hos *Sclerotinia trifoliorum* förefaller emellertid, som ovan nämnts, användandet av klöverstaminfektionsförsök alltför osäkert. Det säkraste tillvägagångssättet skulle givetvis vara, om man kunde utföra infektionsförsök på ett genetiskt enhetligt klövermaterial. Först vid användandet av ett dylikt material som testsortiment, har man i sin hand att med säkerhet urskilja och sedermera identifiera olika raser hos svampen i fråga. Då det för närvarande torde vara omöjligt att framställa ett för dylika försök tillräckligt antal homozygota rödklöverplantor och det även skulle bereda svårigheter att fröföröka dessa plantor genom själv- eller syskonbefruktning, synes denna väg att framställa ett genetiskt enhetligt material oframkomlig. En möjlighet, som däremot förefaller vara användbar, och som av mig prövats (se nedan), är ett utnyttjande av den av Sylvén (1927) anvisade metoden för klöverförökning medelst sticklingar. Genom att använda sig av denna metod har man möjlighet att utav därtill lämpade enstaka röd-

klöverplantor framställa k l o n e r, som sedan år från år kunna förökas i godtyckligt individantal. Efter några orienterande k l o n i n f e k t i o n s f ö r s ö k år 1938, för vilka skall redogöras längre fram, har jag fått den uppfattningen, att r ö d k l ö v e r k l o n e n är den enhet, som bör användas vid sådana infektionsförsök, som avse en rasidentifiering hos *Sclerotinia trifoliorum*. Ett fortsättande av dylika kloninfektionsförsök bör så småningom leda till uppställandet av ett antal för olika *Sclerotinia*raser olikartat reagerande klöverkloner, med andra ord ett tillförlitligt t e s t s o r t i m e n t.

Infektionsförsök med rödklöverstammar.

Material.

Följande rödklöverstammar, i fortsättningen endast betecknade med nedanstående nummer, ingingo i samtliga försök:

1.	Karaby	från	Skåne
2.	Harrie	»	»
3.	Merkur	»	»
4.	Wambåsa	»	Blekinge
5.	Tystofte 40	»	Danmark
6.	Schlesisk stam	»	Tyskland
7.	Göta	»	Östergötland
8.	Hassle-Säby	»	Västergötland
9.	Ultuna	»	Uppland
10.	Offer	»	Norrland
11.	J 015	»	»
12.	Bollsta	»	»

Som infektionsmaterial användes s k l e r o t i e r e n k u l t u r e r uppdragna ur enstaka sklerotier isolerade från av *Sclerotinia trifoliorum* angripna rödklöverplantor; en från Svalöv betecknad Sval 6; en från Ultuna betecknad Ul 7 samt en från Luleå betecknad Lu 5. Ursprungssklerotierna till Ul 7 och Lu 5 ha under en tjänsteresa insamlats av assistenten fil. lic. H. Ekstrand, Statens Växtskyddsanstalt.

Metodik.

Rödklövern såddes i klöverrötfri jord i 40×38 cm. stora trälådor i början av maj. Efter gallring och planträkning placerades lådorna i slutet av juni i för ändamålet särskilt byggda djupa isolerade drivbänkar, med ett tjockt lager av fuktig sågspån i botten. Genom att bänkarna dessutom utlagts på en plats med ständig skugga kunde fuktigheten med endast ett fåtal vattningar hållas hög under hela den tid försöket varade (55 dagar). Klöverplantorna hade vid försökets början ($^1/_7$) en genomsnittlig längd av 10 cm .och 3—5 blad.

Infektionsmaterialet renodlades i laboratoriet på bröd i sterila glasburkar enligt en av RUDORF (1937) angiven metod. De olika sklerotiekulturerna behandlades på samma sätt; sklerotierna fripreparerades från exakt lika gamla kulturer och maldes till mjöl. Sklerotiemjölet uppslammades omedelbart innan infektionen i sterilt vatten + 2 % rörsocker + 0,5 % agar. Vid infektionen användes en finfördelande handspruta och vätskemängden fördelades så jämnt som möjligt på klöverplantorna. Två infektioner gjordes på samtliga försök; en den $^1/_7$ och ytterligare en, då utslaget av den första syntes bliva svagt, den $^{15}/_7$. Tre försök utfördes parallellt under samma betingelser; vardera försöket infekterades med sammanlagt 40 gr. sklerotiemjöl. Temperaturen var vid de båda infektionstillfällena + 16° resp. + 20°. Under försökens gång varierade temp. mellan + 12° och + 23°; den normala dagstemperaturen torde ha varit c:a + 18° och natttemperaturen ett par grader lägre.

Försöksresultat.

Försök 1. Försöket utfördes med tolv rödklöverstammar i 3 upprepningar. Infektionsmaterialet utgjordes av sklerotierenkulturen Sval 6. Synliga resultat av infektionen förmärktes redan efter 4—5 dagar, i det att åtskilliga plantor uppvisade små nekroser på bladen, vilka efterhand förstorades, så att de slutligen täckte hela bladytan. Mikroskopisk undersökning visade att bladens inre var fyllt av *Sclerotinia*mycel. Under försökets gång gjordes en bonitering (den

Tabell I. Infektionsförsök på rödklöver med *Sclerotinia*kulturen Sval 6. (8069 plantor).
Infektionsversuch auf Rotklee mit der *Sclerotinia*kultur Sval 6. (8069 Pflanzen.)

Klöverstam nr Nr der Kleesorte	Låda 1 Kasten 1		Låda 2 Kasten 2		Låda 3 Kasten 3		Summa plantor Summe Pflanzen	Medeltal kvarlevande plantor % Durchschn. überlebender Pflanzen %	Relativtal Relativzahlen
	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend			
1	225	5,3	197	12,2	206	10,2	628	9,2 ± 2,04	44,2
2	225	17,8	207	30,9	229	18,3	661	22,3 ± 4,28	107,1
3	260	23,8	272	20,6	189	18,0	721	20,8 ± 1,68	100,0
4	258	22,2	233	25,8	120	24,1	611	24,0 ± 1,03	115,4
5	287	13,6	189	9,5	212	7,1	688	10,1 ± 1,90	48,6
6	246	9,3	187	7,5	193	6,7	626	7,8 ± 0,77	37,5
7	239	7,1	276	13,8	273	8,1	788	9,7 ± 2,10	46,6
8	109	16,5	167	21,0	217	14,3	493	17,3 ± 1,97	83,2
9	288	9,0	245	13,5	234	14,9	767	12,5 ± 1,79	60,1
10	255	28,6	244	18,0	266	11,7	765	19,4 ± 4,94	93,4
11	210	11,0	196	6,1	268	9,3	674	8,8 ± 1,44	42,3
12	203	8,9	223	7,6	221	1,4	647	6,0 ± 2,32	28,8

$^{25}/_{7}$) av angreppets styrka enligt en 5 gradig skala med varje grad representerande 20 % dödade plantor. Denna bonitering utfördes jämväl för försöken 2 och 3 och de erhållna siffrorna visade sig i stort sett gå parallellt med de slutgiltiga angreppsprocenten, vilka fastställdes genom räkning av antalet kvarlevande plantor den $^{25}/_{8}$. Vid denna tid hade på åtskilliga av de döda plantorna sklerotier hunnit utbildas. Resultatet av försöket framgår av tabell 1. Medelfelen på medelprocenten kvarlevande plantor ha uträknats enligt den vanliga formeln

$$m = \pm \sqrt{\frac{Sd^2}{n\,(n-1)}}$$

Av tabell I framgår att skillnader i resistens tycks förefinnas mellan de olika klöverstammarna. För att få ett siffermässigt uttryck på dessa skillnader ha kvoterna differens/medelfel på differensen stammarna emellan sammanställts i tabell II. Medelfelen på differenserna ha uträknats enl. formeln $m_{1-2} = \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$ Såsom tämligen säkra ha sådana skillnader betraktats, vilkas $^{d}/_{m}$ är 3 eller därutöver. Dessa ha i tabell II utmärkts genom fetstil.

Tabell II. $^{D}/_{m}$ för medeltal kvarlevande plantor i % ur olika rödklöverstammar infekterade med Sval 6.
$^{D}/_{m}$ für Durchschn. überlebender Pflanzen in % aus verschiedenen Rotklee sorten infiziert mit Sval 6.

Klöverstam n:r N:r der Kleesorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	—	−2,8	**−4,4**	**− 6,5**	−0,3	+ 0,6	−0,2	−2,9	−1,2	−1,9	+0,2	+1,0
2	+2,8	—	+0,3	− 0,4	+2,6	**+ 3,3**	+2,6	+1,1	+2,1	+0,4	**+3,0**	**+3,3**
3	**+4,4**	−0,3	—	− 1,6	**+4,2**	**+ 7,0**	**+4,1**	+1,3	**+3,4**	+0,3	**+5,4**	**+5,2**
4	**+6,5**	+0,4	+1,6	—	**+6,4**	**+12,6**	**+6,1**	**+3,0**	**+5,6**	+0,9	**+8,6**	**+7,1**
5	+0,3	−2,6	**−4,2**	**− 6,4**	—	+ 1,1	+0,1	−2,6	−0,9	−1,8	+0,5	+1,4
6	−0,6	**−3,3**	**−7,0**	**−12,6**	−1,1	—	−0,9	**−4,5**	−2,4	−2,3	−0,6	+0,7
7	+0,2	−2,6	**−4,1**	**− 6,1**	−0,1	− 0,9	—	−2,6	−1,0	−1,8	+0,4	+1,2
8	+2,9	−1,1	−1,3	**− 3,0**	+2,6	**+ 4,5**	+2,6	—	+1,8	−0,4	**+3,5**	**+3,7**
9	+1,2	−2,1	**−3,4**	**− 5,6**	+0,9	+ 2,4	+1,0	−1,8	—	−1,3	+1,6	+2,2
10	+1,9	−0,4	−0,3	− 0,9	+1,8	+ 2,3	+1,8	+0,4	+1,3	—	+2,1	+2,5
11	−0,2	**−3,0**	**−5,4**	**− 8,6**	−0,5	+ 0,6	−0,4	**−3,5**	−1,6	−2,1	—	+1,0
12	−1,0	**−3,3**	**−5,2**	**− 7,1**	−1,4	− 0,7	−1,2	**−3,7**	−2,2	−2,5	−1,0	—

Av tabell II kan man utläsa att Skånestammarna Harrie och Merkur (nr. 2 och 3) samt Blekingestammen (nr. 4) visat sig vara mest resistenta, i det att de voro säkert överlägsna 3 respektive 7, och 8 andra stammar och icke underlägsna någon annan stam. Minst resistenta ha den Schlesiska stammen (nr. 6) samt de två norrlandsstammarna J 015 och Bollsta (nr. 11 och 12) visat sig

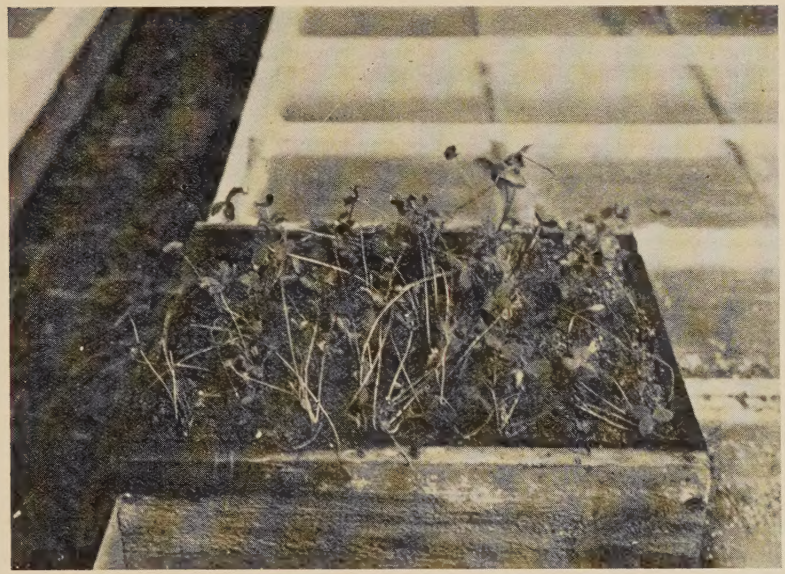

Fig. 1. Rödklöverstam 8 infekterad med Sclerotiniakulturen Sval. 6. Foto 12/8. Atskilliga kvarlevande plantor.
Rotkleesorte 8 infiziert mit der Sclerotiniakultur Sval 6. Aufnahme 12/8. Mehrere überlebende Pflanzen.

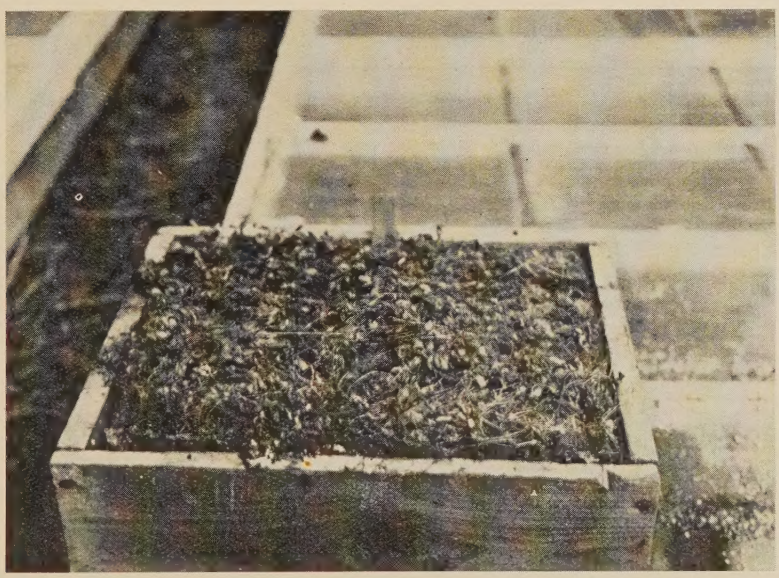

Fig. 2. Samma klöverstam som i Fig. 1., inf. med samma mängd inf. material av Sclerotiniakulturen Ul 7. Foto 12/8. Samtliga plantor döda.
Dieselbe Kleesorte wie in Fig. 1., inf. mit derselben Menge Inf. material von der Sclerotiniakultur Ul 7. Aufnahme 12/8. Sämtliche Pflanzen tot.

vara; var och en säkert underlägsen 4 andra stammar. Riktigheten av dessa resultat och därmed även de övriga försöksresultaten styrkes i hög grad av det förhållandet, att observationer i fältförsök med rödklöverstammar i Svalöv, där angrepp av klöverröta konstaterats, givit liknande resultat för ifrågavarande stammar. Särskilt iögonfallande är parallelliteten i observationerna beträffande stammarna Karaby (nr. 1) och Wambåsa (nr. 4); den förra har såväl i detta infektionsförsök som i fältförsök med samma fröparti ifrågavarande år visat sig avsevärt mindre klöverrötresistent än vad fältobservationer av de senaste årgångarna av denna stam givit vid handen; Wambåsastammen har däremot såväl i detta infektionsförsök som i fältförsök med samma fröparti visat det motsatta förhållandet. Dessa överensstämmelser mellan fältförsök och infektionsförsök ge en antydan om, att man i framtiden bör kunna använda resultaten av klöverstaminfektionsförsök, utförda med den eller de för en viss ort karaktäristiska *Sclerotinia*raserna, som mått på de ingående klöverstammarnas tillfälliga faktiska resistens mot klöverröta på orten i fråga.

Försök 2. Detta försök utfördes på samma sätt som försök 1, men med den skillnaden att som infektionsmaterial användes sklerotiekulturen Ul 7. Resultatet av försöket framgår av tabell III.

Tabell III. Infektionsförsök på rödklöver med *Sclerotinia*kulturen Ul 7. (7611 plantor).
Infektionsversuch auf Rotklee mit der *Sclerotinia*kultur Ul 7. (7611 Pflanzen.)

Klöverstam n:r N:r der Kleesorte	Låda 1 Kasten 1		Låda 2 Kasten 2		Låda 3 Kasten 3		Summa plantor Summe Pflanzen	Medeltal kvarlevande plantor % Durchschn. überlebender Pflanzen %	Relativtal Relativzahlen
	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend			
1	241	0,8	225	4,4	182	1,7	648	2,3 ± 1,09	35,4
2	215	5,6	217	1,4	256	0	688	2,3 ± 1,68	35,4
3	232	6,9	176	6,3	141	6,4	549	6,5 ± 0,19	100,0
4	208	4,3	208	4,8	225	0,9	641	3,3 ± 1,23	50,8
5	200	1,5	220	1,4	270	5,2	690	2,7 ± 1,25	41,5
6	232	0	221	3,6	248	0,8	701	1,5 ± 1,10	23,1
7	175	0	263	2,3	206	0,5	644	0,9 ± 0,71	13,8
8	150	0	144	1,4	242	0	536	0,5 ± 0,47	7,7
9	232	2,6	209	5,3	216	1,4	657	3,1 ± 1,15	47,7
10	217	3,7	195	0	211	0	623	1,2 ± 1,23	18,5
11	209	0	191	1,0	189	1,1	589	0,7 ± 0,35	11,1
12	206	0	246	1,2	193	0	645	0,4 ± 0,40	6,2

Av tabell III framgår bl. a. att angreppet av denna *Sclerotinia*kultur varit betydligt kraftigare än vad fallet var med den i försök 1 använda, ett för-

hållande, som också tydligt framträdde vid en jämförelse av de båda försöken. Jmf. fig. 1 och 2. Vidare antydas resistensskillnader mellan klöverstammarna, vilka ej förhålla sig som i föregående försök.

D/m stammarna emellan äro sammanställda i tabell IV.

Tabell IV. D/m för medeltal kvarlevande plantor i % ur olika rödklöverstammar infekterade med Ul 7.

D/m für Durchschn. überlebender Pflanzen in % aus verschiedenen Rotkleesorten infiziert mit Ul 7.

Klöverstam n:r N:r der Kleesorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	—	±0	**— 3,8**	— 0,6	— 0,2	+ 0,5	+ 1,1	+ 1,5	— 0,5	+ 0,7	+ 1,4	+ 1,6
2	±0	—	— 2,5	— 0,5	— 0,2	+ 0,4	+ 0,8	+ 1,0	— 0,4	+ 0,5	+ 0,9	+ 1,1
3	**+ 3,8**	+ 2,5	—	+ 2,6	**+ 3,0**	**+ 4,5**	**+ 7,7**	**+ 12,0**	+ 2,9	**+ 4,2**	**+14,5**	**+13,8**
4	+ 0,6	+ 0,5	— 2,6	—	+ 0,3	+ 1,1	+ 1,7	+ 2,1	+ 0,1	+ 1,2	+ 2,0	+ 2,2
5	+ 0,2	+ 0,2	**— 3,0**	— 0,3	—	+ 0,7	+ 1,3	+ 1,7	— 0,2	+ 0,9	+ 1,5	+ 1,7
6	— 0,5	— 0,4	**— 4,5**	— 1,1	— 0,7	—	+ 0,5	+ 0,8	— 1,0	+ 0,2	+ 0,7	+ 0,9
7	— 1,1	— 0,8	**— 7,7**	— 1,7	— 1,3	— 0,5	—	+ 0,5	— 1,6	— 0,2	+ 0,3	+ 0,6
8	— 1,5	— 1,0	**— 12,0**	— 2,1	— 1,7	— 0,8	— 0,5	—	— 2,1	— 0,5	— 0,3	+ 0,2
9	+ 0,5	+ 0,4	— 2,9	— 0,1	+ 0,2	+ 1,0	+ 1,6	+ 2,1	—	+ 1,1	+ 2,0	+ 2,2
10	— 0,7	— 0,5	**— 4,2**	— 1,2	— 0,9	— 0,2	+ 0,2	+ 0,5	— 1,1	—	+ 0,4	+ 0,6
11	— 1,4	— 0,9	**— 14,5**	— 2,0	— 1,5	— 0,7	— 0,3	+ 0,3	— 2,0	— 0,4	—	+ 0,6
12	— 1,6	— 1,1	**— 13,8**	— 2,2	— 1,7	— 0,9	— 0,6	— 0,2	— 2,2	— 0,6	— 0,6	—

Tabell V. Infektionsförsök på rödklöver med *Sclerotinia*kulturen Lu 5. (7781 plantor).

Infektionsversuch auf Rotklee mit der *Sclerotinia*kultur Lu 5.(7781 Pflanzen.)

Klöverstam n:r N:r der Kleesorte	Låda 1 Kasten 1		Låda 2 Kasten 2		Låda 3 Kasten 3		Summa plantor Summe Pflanzen	Medeltal kvarlevande plantor % Durchschn. überlebender Pflanzen %	Relativtal Relativzahlen
	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend	Plantantal Anzahl Pflanzen	% kvarlevande % überlebend			
1	226	0,4	143	12,6	165	3,0	534	5,3 ± 3,71	37,6
2	224	5,8	240	10,0	179	5,2	643	7,0 ± 1,51	49,6
3	230	16,1	191	17,3	200	9,0	621	14,1 ± 2,59	100,0
4	239	10,9	228	2,6	236	5,9	703	6,5 ± 2,41	46,1
5	226	4,9	227	14,0	240	6,4	693	8,4 ± 2,82	59,6
6	254	1,6	260	3,8	251	2,8	765	2,7 ± 0,63	19,2
7	302	2,6	231	7,4	290	4,5	823	4,8 ± 1,40	34,0
8	156	3,8	185	3,2	149	0	490	2,3 ± 1,18	16,3
9	190	2,6	196	4,6	201	1,0	587	2,7 ± 1,04	19,2
10	232	2,2	214	2,8	246	2,0	692	2,3 ± 0,24	16,3
11	216	0	227	1,3	163	1,2	606	0,8 ± 0,42	5,7
12	199	1,0	218	0	207	0	624	0,3 ± 0,33	2,1

Man kan av tabell IV utläsa att en stam, nämligen nr. 3 står i särklass, i det att den var säkert överlägsen ej mindre än 8 och icke underlägsen någon av de andra stammarna. De övriga uppvisa sinsemellan inga statistiskt säkra skillnader.

Försök 3. Försöket utfördes som försök 1 och 2 med den skillnaden, att som infektionsmaterial användes sklerotiekulturen Lu 5.

Försöksresultaten framgå av tabell V.

Som synes av tabell V var i detta försök rödklöverstammarnas genomsnittliga resistens intermediär. Resistensskillnader mellan stammarna synas också ha framkommit, och för att få dessa preciserade ha även $^{d}/_{m}$ stammarna emellan sammanställts.

Se tabell VI.

Tabell VI. $^{D}/_{m}$ för medeltal kvarlevande plantor i % ur olika rödklöverstammar infekterade med Lu 5.

$^{D}/_{m}$ für Durchschn. überlebender Pflanzen in % aus verschiedenen Rotkleesorten infiziert mit Lu 5.

Klöverstam n:r / N:r der Kleesorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	—	—0,4	—1,9	—0,3	—0,7	+0,7	+0,1	+0,8	+0,7	+0,8	+1,2	+1,3
2	+0,4	—	—2,4	+0,2	—0,4	+2,6	+1,1	+2,4	+2,3	**+3,1**	**+3,9**	**+4,3**
3	+1,9	+2,4	—	+2,2	+1,5	**+4,2**	**+3,2**	**+4,1**	**+4,1**	**+4,6**	**+5,1**	**+5,3**
4	+0,3	—0,2	—2,2	—	—0,5	+1,5	+0,6	+1,6	+1,4	+1,7	+2,3	+2,5
5	+0,7	+0,4	—1,5	+0,5	—	+2,0	+1,1	+2,0	+1,9	+2,2	+2,7	+2,9
6	—0,7	—2,6	**—4,2**	—1,5	—2,0	—	—1,4	+0,3	±0	+0,6	+2,5	**+3,4**
7	—0,1	—1,1	**—3,2**	—0,6	—1,1	+1,4	—	+1,4	+1,2	+1,8	+2,7	**+3,1**
8	—0,8	—2,4	**—4,1**	—1,6	—2,0	—0,3	—1,4	—	—0,3	±0	+1,2	+1,6
9	—0,7	—2,3	**—4,1**	—1,4	—1,9	±0	—1,2	+0,3	—	+0,4	+1,7	+2,2
10	—0,8	**—3,1**	**—4,6**	—1,7	—2,2	—0,6	—1,8	±0	—0,4	—	**+3,1**	**+4,9**
11	—1,2	**—3,9**	**—5,1**	—2,3	—2,7	—2,5	—2,7	—1,2	—1,7	**—3,1**	—	+0,9
12	—1,3	**—4,3**	**—5,3**	—2,5	—2,9	**—3,4**	**—3,1**	—1,6	—2,2	**—4,9**	—0,9	—

Av tabell VI kan man utläsa, att också i detta försök stam nr. 3 var mest resistent, i det att den var säkert överlägsen 7 och icke underlägsen någon av de andra stammarna. De övriga stammarna uppvisa, med undantag av nr. 11 och 12, som voro klart underlägsna 3 resp. 5 andra stammar, inga anmärkningsvärda olikheter.

Sammanställning av försök 1—3. Vid den ovanstående behandlingen av de enskilda försöken har huvudvikten lagts vid de olika rödklöverstammarnas resi-

stens mot *Sclerotinia trifoliorum*. I det följande har det ansetts mera lämpligt att i stället taga hänsyn till svampens angreppsförmåga eller virulens, vilken, enl. följande begränsade definition på detta begrepp, står i omvänt förhållande till rödklöverns resistens. Med en viss sklerotiekulturs virulens avses i detta sammanhang endast kulturens genomsnittliga kvantitativa angreppsförmåga med hänsyn till antalet dödade klöverplantor.

För att få ett siffermässigt uttryck på skillnaderna i virulens mellan de tre använda sklerotiekulturerna, — vilka klart och tydligt framträdde vid en okulär jämförelse av de tre försöken under deras senare skede — ha differenserna mellan medel % dödade plantor ur samma rödklöverstammar infekterade med de olika sklerotiekulturerna, jämte de till differenserna hörande $D/_m$-värdena sammanställts i tabell VII.

Tabell VII. Differenser och $D/_m$ för medel % dödade plantor ur samma rödklöverstammar infekterade med olika *Sclerotinia*kulturer.
Differenzen und $D/_m$ für prozentisches Durchschn. getöteter Pflanzen aus denselben Rotkleesorten infiziert mit verschiedenen *Sclerotinia*-kulturen.

Klöverstam n:r N:r der Kleesorte	Sclerotiniakulturer Sclerotiniakulturen					
	Sval 6 — Ul 7		Sval 6 — Lu 5		Ul 7 — Lu 5	
	Diff.	$D/_m$	Diff.	$D/_m$	Diff.	$D/_m$
1	— 6,9	2,9	— 3,9	0,9	+ 3,0	0,7
2	— 20,0	**4,3**	— 15,3	**3,3**	+ 4,7	2,1
3	— 14,3	**8,5**	— 6,7	2,2	+ 7,6	2,9
4	— 20,7	**13,5**	— 17,5	**6,7**	+ 3,2	1,1
5	— 7,4	**3,3**	— 1,7	0,5	+ 5,7	1,9
6	— 6,3	**4,7**	— 5,1	**5,1**	+ 1,2	1,0
7	— 8,8	**3,6**	— 4,9	2,0	+ 3,9	2,5
8	— 16,8	**8,3**	— 15,0	**6,5**	+ 1,8	1,4
9	— 9,4	**4,4**	— 9,8	**4,7**	— 0,4	0,2
10	— 18,2	**3,6**	— 17,1	**3,4**	+ 1,1	0,9
11	— 8,1	**5,4**	— 8,0	**5,4**	+ 0,1	0,2
12	— 5,6	2,4	— 5,7	2,4	— 0,1	0,2

Av tabell VII framgår att sklerotiekulturerna Ul 7 och Lu 5 voro virulentare än Sval 6; detta gäller med ganska stor säkerhet för Ul 7 beträffande 10 stammar, för Lu 5 beträffande 7 stammar. Någon statistiskt säker skillnad i virulens mellan Ul 7 och Lu 5 har däremot icke framkommit.

De erhållna försöksresultaten erbjuda emellertid även möjligheter att påvisa andra olikheter än i virulens mellan *Sclerotinia*kulturerna. Skillnaderna i virulens k u n n a vara modifikativa, ehuru det är mest troligt, att de i detta fallet äro genotypiskt betingade. En olikhet, som däremot knappast kan vara modi-

fikativ, är *Sclerotinia*kulturernas relativt olika angreppstyp på de olika rödklöverstammarna, vilken framställes i diagrammet, fig. 3. Relativtalen av medelprocenten kvarlevande plantor ur de olika klöverstammarna äro här ordnade i stigande följd för infektionsmaterialet Sval 6. *Sclerotinia*kulturernas virulenser

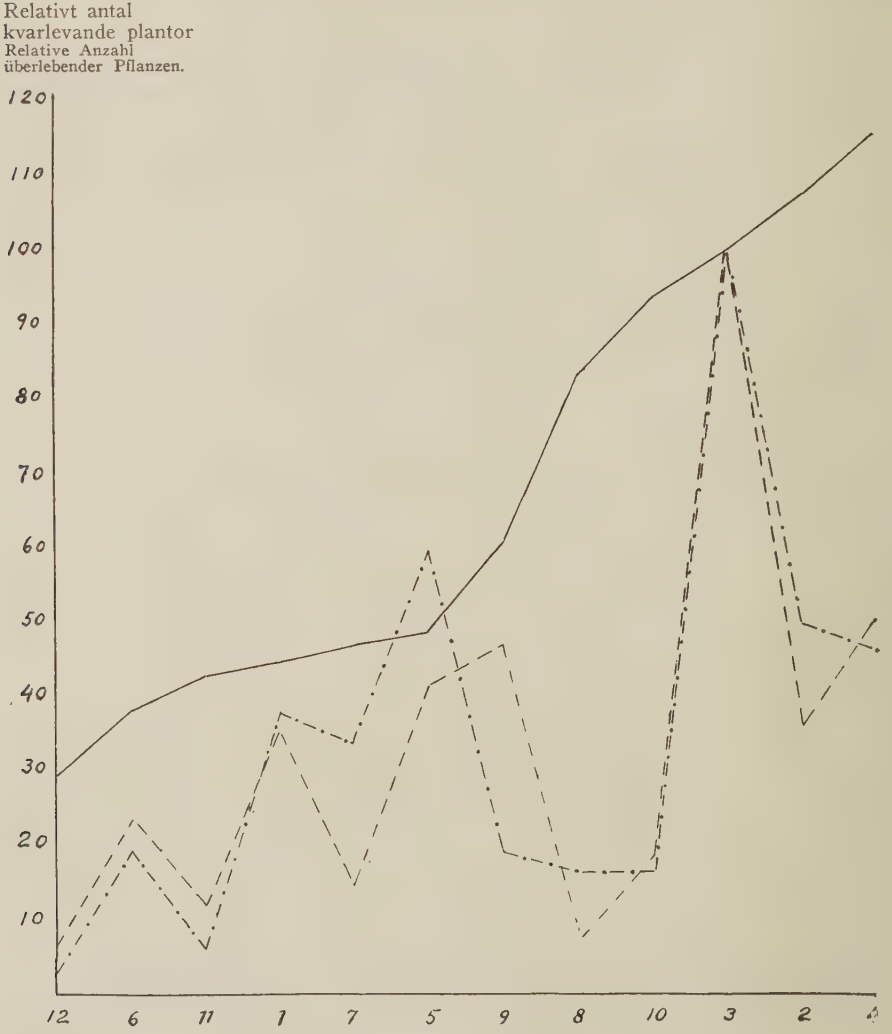

Fig. 3. Diagram utvisande olika angreppstyper av 3 Sclerotiniakulturer på 12 olika rödklöverstammar.

———— Sval. 6. — — — — — Ul 7. —·—·—·—·— Lu 5.

Fig. 3. Diagramm, das verschiedene Angriffstypen von 3 Sclerotiniakulturen auf 12 verschiedenen Rotkleesorten zeigt.

———— Sval 6. — — — — — Ul 7. —·—·—·—·— Lu 5.

äro på grund av användandet av relativtal bringade till samma nivå i förhållande till rödklöverstammen nr. 3.

Av diagrammet, figur 3, ser man att avsevärda skillnader förefinnas i angreppstyp mellan å ena sidan sklerotiekulturen Sval 6 och å andra sidan sklerotiekulturerna Ul 7 och Lu 5. Dessa skillnader tyda med bestämdhet på förekomsten av olika fysiologiska raser hos *Sclerotinia trifoliorum*, även om man med vår nuvarande kännedom om denna svamps utvecklingshistoria ännu icke är berättigad att sätta likhetstecken mellan sklerotierenkultur och fysiologisk ras. För vidare diskussion av denna senare fråga hänvisas till sid. 16. Det anmärkningsvärt likartade förloppet av kurvorna för Ul 7 och Lu 5 antyder, att dessa sklerotiekulturer antingen äro identiska eller också mycket närstående. Sammanfattande kan det sägas, att av försöken 1—3 framgår följande:

1) I praktiken observerade olikheter i resistens mot klöverröta hos olika rödklöverstammar ha experimentellt fastställts.

2) Förefintligheten av fysiologiska raser hos den på rödklöver levande formen av *Sclerotinia trifoliorum* har påvisats.

Orienterande infektionsförsök med rödklöverkloner.

Material och metodik.

Som utgångsplantor för uppdragande av rödklöverkloner utvaldes i slutet av juni 10 stycken kraftiga, rikt rosettgrenade rödklöverplantor av något olika tidighetsgrad ur förädlingsmaterialet av rödklöver vid Sveriges Utsädesförening, Svalöv. Från varje planta togs enl. den av SYLVÉN (1927) angivna metoden 150—200 sticklingar, vilka planterades i drivbänkar. Av de tio sålunda åstadkomna klonerna lyckades fyra bra, i det att cirka 60 % av de tagna sticklingarna gingo till. Övriga kloner hade en betydligt längre tillgångsprocent (10—40), och lämnade av denna anledning ej tillräckligt många plantor för att kunna prövas i infektionsförsök samma år. Av de fyra förstnämnda klonerna uttogs i slutet av augusti likstora plantor, som sattes i krukor med ugnsteriliserad jord, vilka sedan placerades i isolerade drivbänkar under skuggande träd.

De använda klonerna härstammade från förädlingsmaterial av svensk senklöver och hade följande beteckningar:

K 1 = sen typ	.....	blomning ej börjad $^{27}/_{6}$
K 3 = tidig »	.....	full blomning $^{27}/_{6}$
K 7 = » »	.....	begynnande blomning $^{29}/_{6}$
K 9 = sen »	.....	blomning ej börjad $^{30}/_{6}$

Infektionsmaterialet utgjordes av sklerotierenkulturer, som odlats i laboratoriet enl. på sid. 5 angiven metod. Följande sklerotiekulturer användes: de i staminfektionsförsöken ingående Ul 7 och Lu 5 härstammade från Ultuna

resp. Luleå, vidare en kultur från Svedberga (Nordvästra Skåne) betecknad Sved 4, en från Weibullsholm (Landskrona), betecknad W 8 och slutligen en från Hammenhög (Sydöstra Skåne) betecknad H—g 4. Infektionerna utfördes på samma sätt som vid staminfektionsförsöken, en den $^{1}/_{9}$ och ytterligare en den $^{19}/_{9}$. För varje sklerotiekultur användes en bänk med samtliga rödklöverkloner. Varje bänk infekterades med sammanlagt 1,2 gr. sklerotiemjöl. Som kontroll placerades krukor med K 1 och K 3 under likartade betingelser utanför bänkarna (för att undvika kontaktinfektioner). Visserligen blev härigenom luftfuktigheten genomgående något lägre och temperaturen något mer varierande för kontrollkrukorna än för de infekterade krukorna, men dessa skillnader torde ej ha haft någon märkbar inverkan på detta försöks förlopp och slutresultat. Temperaturen var vid infektionstillfällena + 14° och varierade under försökets gång mellan + 3° och + 17°.

Försöksresultat.

Som bedömningsgrund vid avgörandet av angreppets styrka har använts antalet av *Sclerotinia* angripna och dödade blad per kruka, då det vid försökets avslutande ($^{7}/_{10}$) inte med absolut säkerhet kunde avgöras, huruvida plantor med samtliga blad döda också själva voro definitivt ur stånd att bilda nya skott. För att få möjlighet att konstatera detta under år 1939, nedgrävdes efter försökets avslutande samtliga krukor i marken för övervintring. Med största sannolikhet kunna emellertid i detta försök plantorna utan några levande blad anses som döda; i varje fall gäller detta för de plantor, på vilka sklerotier redan hunnit utbildas (se nedan).

Försöksresultaten framgå av tabell VIII.

Av tabell VIII kan man utläsa, att resistensskillnader finnas mellan de olika rödklöverklonerna. K 1 och K 9 med samtliga blad och sannolikt även plantor döda, eftersom sklerotier hunnit utbildas på dem, ha visat sig vara minst resistenta mot alla 5 *Sclerotinia*kulturerna. Mellan K 1 och K 9 observerades en skillnad, som icke framgår av tabellen, nämligen den, att K 9 hastigare reagerade för infektionen med samtliga blad döda redan $^{24}/_{9}$, vid vilken tidpunkt flera blad av K 1 i samtliga bänkar ännu voro levande. Klonen K 7 har visat sig vara i viss mån resistent, i det att en del blad ännu levde vid försökets avslutande. Dessa blad voro emellertid kraftigt nekrotiska, och visade sig vid mikroskopisk undersökning innehålla levande *Sclerotinia*mycel, varför det endast var en tidsfråga, när de slutligen skulle duka under. Anmärkningsvärt är det emellertid, att på ingen planta ur denna klon sklerotier kunde påträffas. Vad slutligen K 3 beträffar, är det den enda klon, med vilken tydligt olikheter mellan sklerotiekulturerna kunnat konstateras. De båda från mellersta och norra Sverige härstammande kulturerna Ul 7 och Lu 5 ha kraftigt angripit denna klon, under det att de från Skåne härstammande endast åstadkommit obetydliga skador.

Tabell VIII. Infektionsförsök på fyra rödklöverkloner med fem sklerotiekulturer av *Sclerotinia trifoliorum*.
K 1 och K 3: 5 plantor per kruka; K 7 och K 9: 15 plantor per kruka.

Infektionsversuch auf vier Rotkleeklonen mit fünf Sclerotienkulturen von *Sclerotinia trifoliorum*.
K 1 und K 3: 5 Pflanzen je Topf; K 7 und K 9: 15 Pflanzen je Topf.

Inf.-material	Antal Blad / Anzahl Blätter	Klonbeteckning / Bezeichnung der Klonen					
		K 1	K 1 ej inf. / K 1 nicht inf.	K 3	K 3 ej inf. / K 3 nicht inf.	K 7	K 9
Lu 5	1/9	21	18	17	—	54	67
	7/10	0 levande[1]	frisk	0 levande[1]	—	0 levande	0 levande[1]
	»	0 lebend[1]	frisch	0 lebend[1]	—	0 lebend	0 lebend[1]
Ul 7	1/9	20	23	21	—	59	69
	7/10	0 levande	1 dött[3] övr. friska	0 levande	—	10 levande men starkt nekrotiska	0 levande[1]
	»	0 lebend	1 tot[3] übr. frisch	0 lebend	—	10 lebend aber stark nekrotisch	0 lebend
Sved 4	1/9	22	21	20	—	54	70
	7/10	0 levande	2 döda[3] övr. friska	17 levande! ca 12 döda[2]	—	12 levande men starkt nekrotiska	0 levande[1]
	»	0 lebend	2 tot[3] übr. frisch	17 lebend! ca 12 tot[2]		12 lebend aber stark nekrotisch	0 lebend[1]
W 8	1/9	20	—	18	19	61	63
	7/10	0 levande	—	15 levande! ca 10 döda[2]	frisk	12 levande men starkt nekrotiska	0 levande[1]
	»	0 lebend	—	15 lebend! ca 10 tot[2]	frisch	12 lebend aber stark nekrotisch	0 lebend
H—g 4	1/9	19	—	18	21	60	71
	7/10	0 levande	—	18 levande! ca 10 döda[2]	frisk	0 levande	0 levande[1]
	»	0 lebend	—	18 lebend! ca 10 tot[2]	frisch	0 lebend	0 lebend[1]

[1] Sklerotier på flera av plantorna 7/10.
[1] Sklerotien an vielen von den Pflanzen 7/10.
[2] Ätskilliga blad nybildade under försökets gång.
[2] Viele Blätter neugebildet während des Versuches.
[3] Dödsorsak: sannolikt mekanisk skada.
[3] Todesursache: wahrscheinlich mechanische Verletzung.

I K 3-krukorna infekterade med Sved 4, W 8 och H—g 4 observerades en del döda blad (se tabell VIII).

Orsaken till att dessa blad dött och icke de övriga i samma krukor torde bero på en giftverkan av alltför täta anhopningar av sklerotiemjölet på de dödade bladen. Enl. ROSTRUP (1890) åstadkommer nämligen enbart saften från pressade sklerotier av *Sclerotinia trifoliorum* applicerad i droppform på klöverblad kraftiga nekroser på dessa. I mina försök har det beträffande ovannämnda nekrotiska blad sannolikt varit frågan om en dylik giftverkan, eftersom mycelinfektion i dessa blad icke kunde konstateras.

Det är utan vidare klart, att man icke kan påräkna några definitiva resultat av ett så litet klöverkloninfektionsförsök som detta, som endast varit orienterande. Därtill fordras säkerligen ett betydligt större antal klöverkloner. Det är mycket möjligt att framtida försök även komma att medföra en modifiering av bedömningsgrunderna för angreppets typ, varvid även klöverklonernas reaktion i fråga om utbildning eller icke utbildning av sklerotier bör medtagas. Sklerotierna äro som bekant av fundamental betydelse för svampens förökning och spridning.

Vad jag med denna redogörelse för ett orienterande försök har velat påpeka, är dels det principiellt viktiga i att använda ett genetiskt enhetligt material nämligen k l o n e n, dels möjligheten att i praktiken utföra försök med detta material med ringa plantantal.

Diskussion.

Vid samtliga ovannämnda försök har infektionsmaterialet utgjorts av sklerotierenkulturer, uppdragna ur enstaka sklerotier av *Sclerotinia trifoliorum,* vilka insamlats från fältet.

Riktigheten av att använda dylika sklerotiekulturer som enheter vid infektionsförsök kan givetvis diskuteras, enär vi med vår nuvarande kännedom om svampens utvecklingshistoria inte veta någonting om sklerotiernas genetiska sammansättning. Teoretiskt sett kunna sklerotier, som insamlas från fältet, antingen innehålla cellkärnor av en fysiologisk ras, eller av flera dylika raser. Det är på undersökningarnas nuvarande ståndpunkt omöjligt att yttra sig om, vilket av dessa båda fall, som varit realiserat beträffande de till ovannämnda infektionsförsök använda sklerotiekulturerna. Men även om ursprungssklerotierna ha innehållit cellkärnor av flera raser, kvarstår dock det på sid 13 gjorda påvisandet av förekomsten av fysiologiska raser. Det blir i så fall icke fråga om enstaka raser utan om r a s g r u p p e r, som de olika sklerotiekulturerna representera. Fortsatta infektionsförsök utförda med sklerotier från enascosporkulturer komma sannolikt att närmare utreda denna fråga.

I detta sammanhang kan det vara på sin plats att påpeka ett förhållande, som är av betydelse vid bedömandet av infektionsförsök med denna svamp. Som

bekant sker enligt vår nuvarande kännedom spridningen av *Sclerotinia trifoliorum* i naturen till stor del genom att ascosporer, som bildas i de från sklerotierna utväxande apothecierna, spridas till och infektera klöverblad. De med konst utförda infektionerna utföras däremot, som ovan nämnts, av tekniska skäl med söndermalda sklerotier. Genom detta förfaringssätt uppstår i vissa fall en viktig skillnad mellan den naturliga och den med konst utförda infektionen. I det fall sklerotiematerialet endast innehåller en fysiologisk ras äro resultaten av de båda infektionstyperna fullt jämförbara. Detta gäller under förutsättning, att dylika sklerotier äro i fråga om patogenitetsgener homokaryotiska cellkomplex. Det är mycket möjligt att påbörjade utvecklingshistoriska undersökningar komma att visa, att en differentiering i + och — kärnor normalt förekommer hos denna svamp, varvid frågan om den möjliga förekomsten av dylika enrasiga sklerotier skall upptagas till förnyad diskussion. Om däremot sklerotiematerialet uppdragits från ett sklerotium med cellkärnor av flera fysiologiska raser, kunna resultaten av den naturliga och den konstgjorda infektionen icke utan vidare jämföras, enär ascosporbildningen föregås av karyogami och reduktionsdelning (förf. opubl.) och således möjlighet för nybildning av fysiologiska raser är förhanden.

Av det ovan sagda torde framgå, att en utredning av utvecklingshistorien hos *Sclerotinia trifoliorum* är av grundläggande betydelse för en vidgad förståelse av sjukdomen. Av särskild vikt är därvid frågan om fortplantningsförhållandena hos svampen i fråga.

Alnarp i jan. 1939.

Zusammenfassung.

Titel der Mitteilung: Untersuchungen über den Kleekrebs.

I. Infektionsversuche mit *Sclerotinia trifoliorum* Erikss.

Vorläufige Mitteilung.

In der vorliegenden Mitteilung werden nur Infektionsversuche mit der auf Rotklee lebenden Form von *Sclerotinia trifoliorum* behandelt. Der Zweck dieser Versuche war teils die experimentelle Feststellung der bereits in der Praxis beobachteten Unterschiede in der Resistenz betreffend Kleekrebs von verschiedenen Rotkleesorten, teils den Nachweis physiologischer Rassen des infragestehenden Pilzes zu erbringen. In der Einleitung werden einige prinzipielle Schwierigkeiten bei der Durchführung von Infektionsversuchen mit Parasiten auf fremdbefruchtenden Pflanzen diskutiert.

Dass die Infektionsversuche, die bisher mit *Sclerotinia trifoliorum* ausgeführt worden sind, ein so geringes Resultat gegeben haben, dürfte vor allem dadurch zu erklären sein, dass es bedeutend komplizierter ist, physiologische Rassen bei einem Parasiten auf einer frembefruchtenden Pflanze (wie Klee) nachzuweisen als bei Parasiten auf Selbstbefruchtern oder Pflanzen mit vegetativer Vermehrung (Klonpflanzen). Bei Rotklee enthält jede Sorte wie bekannt eine Anzahl verschiedener Biotypen im Sinne Johannsens und auf Grund dieser Heterogenität innerhalb der Sorte, die ausserdem durch natürliche Selektion von Jahr zu Jahr nicht vollständig konstant ist, ist es gegebenenfalls mit grosser Unsicherheit verbunden, die Sorte als Einheit zu verwenden bei der Ausführung solcher Infektionsversuche, welche die Erforschung verschiedener Pilzrassen zum Zweck haben. Auch wenn man die Versuche auf ein und dasselbe Jahr beschränkt oder dieselbe Samenpartie eine Reihe von Jahren anwendet, kann man nicht im voraus sicher sein, verschiedene Resultatet zu bekommen von Infektionen auf derselben Rotkleesorte durch zwei mit Bestimmtheit verschiedene Rassen von *Sclerotinia trifoliorum*. Im Gegenteil kann es vorkommen, dass, obwohl man mit zwei verschiedenen Pilzrassen infiziert, die sichtbaren Schlussresultatete gleichartig sind. Um dies zu beleuchten, kann man der Einfachheit halber annehmen, dass die eine *Sclerotinia*rasse eine Anzahl Biotypen a—g angreift und tötet, welche zusammen 10 % einer gewissen Rotkleesorte ausmachen, während die andere *Sclerotinia*rasse eine Anzahl anderer Biotypen h—m tötet, die auch zusammen 10 % derselben Rotkleesorte ausmachen. Auf diese Art bekommt man mit einem Infektionsversuch mit diesen beiden verschiedenen Rassen einen prozentuell gleich starken Angriff auf die Rotkleesorte, und wenn diese, wie oft der Fall ist in morphologischer Hinsicht so gut wie einheitlich ist, kann man bei der Beurteilung der Resultate nicht konstatieren, dass der Angriff in den beiden Fällen wirklich qualitativ verschiedenartig ist, und dass man es mit zwei verschiedenen Pilzrassen zu tun hat.

Nach den Versuchen zu urteilen, die weiter unten beschrieben werden sollen, hat es sich jedoch gezeigt, dass es möglich ist, gewisse Resultate zu erreichen auch mit Kleesorteninfektionsversuchen, wenn die Versuche ausgeführt werden mit einer grösseren Anzahl Kleesorten neben einander, und die Anzahl Pflanzen von jeder Sorte gross ist.

Auch aus einem anderen Gesichtspunkt aus, nämlich dem der Resistenzzüchtung, sind diese Sorteninfektionsversuche in grösserem Massstabe wert ausgeführt zu werden. Die beim Abschluss der Versuche überlebenden Pflanzen müssen natürlich eine durchschnittlich grössere Resistenz gegen *Sclerotinia trifoliorum* besitzen als die ursprüngliche Sorte, und infolgedessen müssen diese Pflanzen ein wertvolles Ausgangsmaterial bilden entweder für direkte Vermehrung oder für fortgesetzte Eliminierung empfänglicher Pflanzen, z. B. durch erneute Infektionen mit anderen *Sclerotinia*-Rassen. Eine auf diese Art betriebene Resistenzzüchtung von Rotklee bedeutet in Wirklichkeit nur eine Verschärfung der zu diesem Zweck von Sylvén (1936) ausgearbeiteten Methode, die sich stützt auf die Wirkung der natürlichen Auswahl in resistenzzüchtender Hinsicht. Vorausgesetzt dass die künstlich ausgeführten Infektionen auf grossen Sortimenten ausgefürht werden, bietet sie jedoch gewisse Vorteile der natürlichen Auswahlmethode gegenüber ins besondere aus dem Grunde, dass die Ansteckung mehr vollständig gemacht werden kann. Ausserdem ist die Infektionsmethode überlegen, wenn man es mit verschiedenen physiologischen Rassen des Kleekrebspilzes zu tun hat, welches äusserst wahrscheinlich ist (siehe unten).

Um endgültige Beweise für eine physiologische Rassenspezialisierung bei *Sclerotinia trifoliorum* zu bekommen, scheint jedoch wie oben genannt wurde, die Anwendung von Kleesorteninfektionsversuchen zu unsicher. Das sicherste Verfahren würde natürlich sein, wenn man Infektionsversuche auf g e n e t i s c h e i n h e i t l i c h e m Kleematerial ausführen könnte. Erst bei der Anwendung von einem solchen Material als Testsortiment, hat man es in der Hand, mit Sicherheit die verschiedenen Rassen des fraglichen Pilzes zu unterscheiden und daraufhin zu identifizieren. Da es augenblicklich unmöglich sein dürfte, eine für solche Versuche genügende Anzahl homozygoter Rotkleepflanzen hervorzubringen, und es ausserdem Schwierigkeiten bereiten würde, diese Pflanzen durch Selbst- oder Geschwisterbefruchtung durch Samen zu vermehren, so scheint dieser Weg ein genetisch einheitliches Material hervorzubringen nicht zum Ziele zu führen. Eine Möglichkeit, die dagegen anwendbar erscheint und von mir geprüft worden ist (siehe unten), ist die Ausnutzung der von Sylvén (1927) angewiesenen Methode der Kleevermehrung durch Stecklinge. Durch die Anwendung dieser Methode hat man die Möglichkeit von dazu besonders passenden, einzelnen Rotkleepflanzen K l o n e n hervorzubringen, die dann von Jahr zu Jahr vermehrt werden können in beliebig grosser Individuenanzahl. Nach einigen orientierenden K l o n i n f e k t i o n s v e r s u c h e n im Jahre 1938, über welche später berichtet werden wird, habe ich die Auffassung bekommen, dass der

Rotkleeklon die Einheit ist, die bei solchen Infektionsversuchen angewendet werden muss, die eine Rassen-identifizierung von *Sclerotinia trifoliorum* zur Absicht haben. Eine Fortsetzung von solchen Kloninfektionsversuchen muss allmählich zu einer Aufstellung einer Anzahl auf die verschiedenen *Sclerotinia*-rassen verschieden reagierenden Kleeklonen führen, mit anderen Worten einem zuverlässigen Testsortiment.

Infektionsversuche mit Rotkleesorten.

Sämtliche Versuche umfassten zwölf Rotkleesorten (siehe Seite 4). Als Infektionsmaterial wurden drei Sklerotienreinkulturen angewandt (mit Abstammungen: eine von Svalöv, Süd-Schweden, bezeichnet Sval. 6; eine von Ultuna, Mittelschweden, bezeichnet Ul. 7; eine von Luleå, Nordschweden, bezeichnet Lu. 5) aufgezogen aus einzelnen Sklerotien, isoliert von von *Sclerotinia trifoliorum* angegriffenen Rotkleepflanzen. Drei Versuche wurden parallel unter gleichen Bedingungen ausgeführt. Die Reinzüchtung des Pilzes geschah gemäss der von Rudorf (1937) angegebenen Methode.

Aus der Tabelle I—VI geht hervor, dass Resistenzunterschiede betreffend Kleekrebs bei den untersuchten Kleesorten gefunden wurden. Die Richtigkeit der Versuchsresultate wird in hohem Masse bestätigt durch das Verhältnis, dass die Resultate von Versuch 1, welcher mit einer Sklerotienkultur infiziert wurde von Svalöv, mit Beobachtungen von *Feldversuchen* mit denselben Rotkleesorten in Svalöv, wo Angriffe von Kleekrebs konstatiert wurden, übereinstimmten.

Bei der Behandlung der einzelnen Versuche wurde der Hauptwert auf die Resistenz der verschiedenen Rotkleesorten gegen *Sclerotinia trifoliorum* gelegt. Im folgenden habe ich es mehr passend gefunden anstatt dessen Rücksicht zu nehmen auf das Angriffsvermögen oder die Virulenz des Pilzes, welche auf Grund der folgenden, begrenzten Definition dieses Begriffes, im umgekehrten Verhältnis zur Resistenz des Rotklees steht. Mit der Virulenz einer gewissen Sklerotienkultur wird in diesem Zusammenhange nur das durchschnittliche Angriffsvermögen einer Kultur in quantitativer Hinsicht und mit Bezug auf die Anzahl getöteter Kleepflanzen gemeint.

Um die Unterschiede der Virulenz zwischen den drei angewandten Sklerotienkulturen ziffermässig auszudrücken, — — — welche Unterschiede klar und deutlich hervortraten bei einem Okularvergleich während der letzten Stadien der drei Versuche (vergleiche Fig. 1 und 2) — — — wurden die Unterschiede der Zahlen des prozentischen Durchschnitts getötete Pflanzen, die aus denselben Rotkleesorten stammten und infiziert wurden mit den verschiedenen Sklerotienkulturen, zusammengestellt in Tabelle VII. Aus Tabelle VII geht hervor, dass die Sklerotienkulturen Ul 7 und Lu 5 virulenter waren als Sval 6; dies gilt mit ziemlich grosser Sicherheit für Ul 7 betreffend 10 Sorten, für Lu 5 betreffend 7 Sorten. Ein statistisch sicherer Unterschied in Virulenz zwischen Ul 7 und Lu 5 hat sich dagegen nicht gezeigt.

Die erhaltenen Versuchsresultate erbieten jedoch auch die Möglichkeit andere Verschiedenheiten als die der Virulenz der *Sclerotinia*kulturen nachzuweisen. Die Unterschiede der Virulenz können modifikativ sein, obwohl es am wahrscheinlichsten ist, dass sie in diesem Falle genotypisch bedingt sind. Eine Ungleichheit, die dagegen kaum modifikativ sein kann, ist der relativ verschiedene Angriffstyp der *Sclerotinia*kulturen auf die verschiedenen Rotkleesorten, welche im Diagramm Figur 3 gezeigt wird. Die Relativzahlen der prozentischen Durchschnitte überlebende Pflanzen der einzelnen Kleesorten sind hier geordnet in steigender Reihenfolge für das Infektionsmaterial Sval 6. Die Virulenzen der *Sclerotinia*kulturen sind hier auf Grund der Anwendung von Relativzahlen auf dasselbe Niveau gebracht im Verhältnis zur Rotkleesorte Nr. 3. Aus dem Diagramm, Fig. 3, ersieht man, dass bedeutende Unterschiede vorkommen im Angriffstyp zwischen einerseits Sklerotienkultur Sval 6 und andererseits den Sklerotienkulturen Ul 7 und Lu 5. Diese Unterschiede deuten mit Bestimmtheit hin auf das Vorkommen verschiedener physiologischer Rassen bei *Sclerotinia trifoliorum,* selbst wenn man mit unseren jetzigen Kenntnissen von der Entwicklungsgeschichte dieses Pilzes noch nicht berechtigt ist, Gleichheitzeichen zu setzen zwischen Sklerotienreinkultur und physiologischer Rasse. Zwecks weiterer Diskussion dieser letzteren Frage wird verwiesen auf Seite 22. Der bemerkenswert gleichartige Verlauf der Kurven von Ul 7 und Lu 5 deutet daraufhin, dass diese Sklerotienkulturen entweder identisch sind oder einander sehr nahestehend. Man kann zusammenfassend sagen, dass folgendes aus den Versuchen 1—3 hervorgeht:

1) In der Praxis beobachtete Ungleichheiten in der Resistenz gegen Kleekrebs bei verschiedenen Rotkleesorten sind experimentell bestätigt worden.

2) Das Vorkommen von physiologischen Rassen bei der auf Rotklee lebenden Form von *Sclerotinia trifoliorum* ist nachgewiesen worden.

Orientierende Infektionsversuche mit Rotkleeklonen.

Betreffend die Herkunft der verschiedenen Rotkleeklonen und des Infektionsmaterials wird auf den schwedischen Text (Seite 13) verwiesen. Kleestecklinge wurden in Töpfe mit ofensterilisierter Erde gepflanzt; Infektion und übrige Methodik war die gleiche wie bei den Kleesorteninfektionsversuchen. Die Versuchsresultate sind zusammengestellt in Tabelle VIII. Aus diesen geht u. A. hervor, dass mit Klon Nr. 3 Ungleichheiten zwischen den angewandten Sklerotienkulturen konstatiert werden konnten. Die beiden von Mittel- und Nordschweden herstammenden Kulturen Ul 7 und Lu 5 haben diesen Klon stark angegriffen, während die von Schonen herstammenden Kulturen nur unbedeutende Schaden verursacht haben.

In den K 3-Töpfen infiziert mit Sved 4, W 8 und H—g 4 wurden ein Teil tote Blätter beobachtet (siehe Tabelle VIII). Die Ursache, dass diese Blätter

abgestorben sind und nicht die übrigen in denselben Töpfen, dürfte zu finden sein in der Giftwirkung allzudichter Anhäufungen von Sklerotienmehl auf den abgestorbenen Blättern. Laut ROSTRUP (1890) verursacht nämlich der blosse Saft von gepressten Sklerotien von *Sclerotinia trifoliorum* in Tropfenform auf Kleeblätter überführt kräftige Nekrosen auf denselben. In meinen Versuchen ist es was die obengenannten nekrotischen Blätter betrifft wahrscheinlich eine derartige Giftwirkung gewesen, da eine Myzelieninfektion in diesen Blättern nicht konstatiert werden konnte.

Es ist ohne weiteres klar, dass man mit definitiven Resultaten von einem so kleinen Kleekloninfektionsversuch wie diesem, der nur orientierend war, nicht rechnen kann. Dazu sind bestimmt eine bedeutend grössere Anzahl Kleeklone erforderlich. Es ist sehr wohl möglich, dass zukünftige Versuche auch eine Umänderung der Beurteilungsgrundlagen für den Typ des Angriffes herbeiführen werden, wobei auch die Reaktion der Kleeklone auf Ausbildung oder Nicht-Ausbildung von Sklerotien mit in Betracht gezogen werden muss. Die Sklerotien sind bekanntlich von grundlegender Bedeutung für die Vermehrung und Verbreitung des Pilzes.

Was ich mit diesem Bericht über einen orientierenden Versuch hervorheben wollte, ist teils, dass es prinzipiell wichtig ist, genetisch einheitliches Material, nämlich die Klonen, zur Anwendung zu bringen, teils die Möglichkeit, in der Praxis Versuche mit diesem Material mit geringer Pflanzenanzahl auszuführen.

Diskussion.

Bei sämtlichen obengenannten Versuchen hat das Infektionsmaterial bestanden aus Sklerotienreinkulturen, aufgezogen aus einzelnen Sklerotien von *Sclerotinia trifoliorum,* die auf dem Feld eingesammelt wurden.

Die Richtigkeit der Anwendung solcher Sklerotienkulturen als Einheiten bei Infektionsversuchen kann gegebenenfalls diskutiert werden, da wir mit unseren jetzigen Kenntnissen von der Entwicklungsgeschichte des Pilzes nichts wissen von der genetischen Zusammensetzung der Sklerotien. Theoretisch können Sklerotien, die vom Feld eingesammelt werden, entweder Zellkerne einer physiologischen Rasse oder von mehreren solchen enthalten. Bei dem jetzigen Standpunkt der Untersuchungen ist es unmöglich sich darüber zu äussern, welcher dieser beiden Fälle bei den zu obengenannten Infektionsversuchen verwandten Sklerotienkulturen zutreffend war. Aber selbst wenn die Ursprungssklerotien Zellkerne mehrerer Rassen enthielten, bleibt doch der auf Seite 21 geführte Nachweis des Vorkommens physiologischer Rassen bestehen. Es handelt sich in diesem Falle nicht um einzelne Rassen sondern um Rassengruppen, welche die verschiedenen Sklerotienkulturen repräsentieren. Weitere Infektionsversuche ausgeführt mit Sklerotien aus Einzelaskosporenkulturen werden wahrscheinlich diese Frage näher klarstellen.

In diesem Zusammenhange kann es angebracht sein, einen Umstand hervorzuheben, der von Bedeutung ist bei der Beurteilung der Infektionsversuche mit diesem Pilz. Laut unseren augenblicklichen Kenntnissen erfolgt bekanntlich die Verbreitung von *Sclerotinia trifoliorum* in der Natur grossen Teils dadurch, dass Askosporen, die in den aus den Sklerotien auswachsenden Apothezien gebildet werden, zu Kleeblättern verbreitet werden und diese infizieren. Die künstlich ausgeführten Infektionen werden dagegen wie oben gennant, aus technischen Gründen mit Hilfe von zermahlenen Sklerotien ausgeführt. Auf Grund dieses Verfahrens entsteht in gewissen Fällen ein wichtiger Unterschied zwischen der natürlichen und der künstlich ausgeführten Infektion. In dem Falle, wo das Sklerotienmaterial nur eine physiologische Rasse enthält, sind die Resultate der beiden Infektionstypen vollständig vergleichbar. Dies gilt unter der Voraussetzung, dass derartige Sklerotien in Bezug auf Pathogenitätsgene homokaryotische Zellenkomplexe sind. Es ist möglich, dass im Angriff genommene entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen zeigen werden, dass eine Differenzierung in + und — Kernen bei diesem Pilz gewöhnlich ist, wobei die Frage des möglichen Vorkommens von derartigen, einrassigen Sklerotien aufs neue erörtert werden wird. Wenn dagegen das Sklerotienmaterial von einem Sklerotium mit Zellkernen von mehreren physiologischen Rassen aufgezogen wird, können die Resultate der natürlichen und der künstlich hervorgerufenen Infektion nicht ohne weiteres verglichen werden, da Karyogamie und Reduktionsteilung der Askosporenbildung vorangeht (Verf. unveröff.) und deshalb Möglichkeit vorhanden ist für Neubildung von physiologischen Rassen.

Aus dem oben Gesagten dürfte hervorgehen, dass eine Ermittlung der Entwicklungsgeschichte von *Sclerotinia trifoliorum* von grundlegender Bedeutung für ein erweitertes Verständnis der Krankheit ist. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Frage der Vermehrungsverhältnisse des in Betracht kommenden Pilzes.

Litteratur.

Beretning fra Statsanstalten Dansk Frøkontrol. — Tidsskr. fr. Planteavl. 1893/94—1902/03.

Ekstrand, H.: Några ekonomiskt viktiga sjukdomar på höstsäd och vallväxter. — Statens Växtskyddsanst. Medd. 25. Stockholm 1938.

Nilsson-Leissner, G., och Sylvén, N.: Studier över klöverrötan *(Sclerotinia Trifoliorum)*. — Sveriges Utsädesförenings tidskr. årg. XXXIX, 1929.

Pape, H.: Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Kleekrebses (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.). — Arb. d. B. R.—A. Bd. 22, H. 2, 1937.

Rostrup, E.: Kløverens Bægersvamp i Vinteren 1889—90. — Tidsskr. f. Landøkonomi. 5. Række. Bd. 9, 1890.

Rudorf, W.: Untersuchungen zur Züchtung kleekrebsresistenten Kleearten und Luzerne. — Züchter 9, 1937.

Sylvén, N.: Klöverförökning medelst sticklingar. — Sveriges Utsädesförenings tidskr. årg. XXXVII, 1927.

—»— Die natürliche Auslese im Dienste der Rotkleezüchtung. — Züchter 8. 1936.

Troussowa, N. P.: (Ueber die Möglichkeit der Beimengung von Sklerotien von *Sclerotinia trifoliorum* zur Kleesaat.) — La Défense des Plantes 1927, (russ.) Cit. efter Pape (1937).